QUANTA Flash® h-tTG IgA Reagents

701103
701100

Para Utilização em Diagnóstico *In Vitro*

Utilização prevista

O QUANTA Flash h-tTG IgA é um imunoensaio quimioluminescente (IEQ) para a deteção semiquantitativa de anticorpos IgA da transglutaminase do tecido anti-humano (h-tTG) em soro humano. A presença de anticorpos IgA anti-h-tTG, em conjunção com conclusões clínicas e outros testes laboratoriais, pode auxiliar no diagnóstico de enteropatias sensíveis ao glúten, como a doença celíaca (DC) e a dermatite herpetiforme (DH).

Resumo e explicação do teste

A doença celíaca é uma condição crónica, cujas características principais incluem a inflamação e o esmagamento característico da mucosa intestinal, resultando numa síndroma de má absorção conhecida como uma enteropatia sensível ao glúten. A etiologia exata da doença permanece desconhecida, à exceção da gliadina, fração solúvel do álcool de glúten do trigo, que é claramente o agente tóxico.[1,2]

Inicialmente, utilizou-se uma série de biopsias intestinais para diagnosticar a doença celíaca. Mais recentemente, têm sido sugeridos testes sorológicos para anticorpos de antigliadina, antiendomisial e anti-tTG para examinar os doentes com enteropatia sensível ao glúten, bem como para controlar a conformidade dietética.[3-5] A Sociedade Europeia de Gastrenterologia e Nutrição Pediátrica recomendou a utilização de marcadores de anticorpos, tais como os anticorpos da antigliadina e antiendomisial, para reduzir o número de biopsias intestinais necessárias para fazer um diagnóstico.[5]

O antigénio endomisial foi identificado como a enzima de ligação cruzada com a proteína tTG.[6] O antigénio h-tTG tem sido produzido por tecnologia recombinante, e pode ter certas vantagens comparando com o antigénio do fígado de porquinho-da-índia.[7,8]

A dermatite herpetiforme é uma doença de pele que, tal como a doença celíaca, é causada pela ingestão da proteína do trigo. A maioria dos doentes com DH apresenta atrofia das vilosidades jejunais idêntica à encontrada nos casos de doença celíaca, e uma dieta rigorosa sem glúten melhora tanto as lesões intestinais como as dermatológicas.[1,2,9] Os métodos sorológicos atuais, como os ensaios endomisiais de gliadina nativa e tTG, apresentam desempenhos inferiores quando usados para a DH, com sensibilidades de apenas 60-75%[9], quando comparados com os valores de 95% ou superiores para a doença celíaca.[3-8]

Princípios do procedimento

O h-tTG recombinante purificado está revestido por esferas paramagnéticas, que estão guardadas no cartucho de reagente em condições que conservem o antigénio no seu estado reativo. Quando o cartucho do ensaio estiver pronto a ser utilizado pela primeira vez, adiciona-se uma solução tampão ao tubo que contém as esferas, e as esferas são ressuspendidas com o tampão. O cartucho de reagente é então carregado no instrumento BIO-FLASH.

O instrumento dilui uma amostra do doente 1:17 numa tina plástica descartável. Pequenas quantidades de soro do doente diluído, as esferas de h-tTG e o tampão de ensaio são todos combinados numa segunda tina e misturados. Incuba-se esta tina a 37 °C. As esferas são então magnetizadas e lavadas várias vezes. Adiciona-se então à tina o anticorpo IgA anti-humano conjugado de isoluminol e incuba-se a 37 °C. Mais uma vez, as esferas são magnetizadas e lavadas repetidamente. O conjugado de isoluminol produz uma reação luminescente quando se adicionam os reagentes “Ativadores” à tina. A luz produzida a partir desta reação é medida como

Unidades Relativas de Luz (URL) pelo sistema ótico BIO-FLASH. As URL são proporcionais à quantidade de conjugado de isoluminol ligado que, por sua vez, é proporcional à quantidade de anticorpos IgA anti-h-tTG ligados ao h-tTG nas esferas.

O ensaio QUANTA Flash h-tTG IgA utiliza uma Curva Modelo específica do lote predefinida que é carregada no instrumento através do código de barras do cartucho de reagente. Baseando-se no resultado da execução de dois calibradores, cria-se uma Curva de Trabalho específica do instrumento, que o software utiliza para calcular unidades quimioluminescentes (UQ) a partir do valor da URL obtido para cada amostra.

Reagentes

1. O cartucho de reagente QUANTA Flash h-tTG IgA contém os reagentes seguintes para 50 determinações (701103) / 100 determinações (701100):
   a. Esferas paramagnéticas revestidas de h-tTG, conservadas antes da primeira utilização.
   b. Tampão de ensaio – cor-de-rosa, contendo tampão salino Tris, Tween 20, estabilizadores proteicos e conservantes.
   c. Marcador IgA – anticorpo IgA anti-humano marcado a isoluminol, contendo tampão, estabilizadores proteicos e conservante.
2. Tampão de ressuspensão, 1 frasco – cor-de-rosa, contendo tampão, estabilizadores proteicos e conservantes.

Advertências

1. O tampão de ensaio contém um químico (0,02% cloranfenicol) conhecido no Estado da Califórnia por causar cancro.
2. A azida de sódio é utilizada como conservante. A azida de sódio é venenosa e pode ser tóxica se for ingerida ou absorvida pela pele ou pelos olhos. A azida de sódio pode reagir com componentes de canalizações de chumbo ou cobre formando azidas metálicas potencialmente explosivas. Por esta razão, ao deitar fora os restos de reagentes, é necessário deixar correr água em quantidade abundante para evitar a acumulação de azida.
3. Usar equipamento de proteção individual apropriado para trabalhar com os reagentes fornecidos.
4. Os salpicos de reagentes devem ser limpos imediatamente. Respeitar todas as regulamentações ambientais, nacionais e locais relativas à eliminação de resíduos.

Precauções

1. Este produto destina-se a Utilização para Diagnóstico *In Vitro*.
2. Este ensaio destina-se apenas a utilização com o instrumento BIO-FLASH.
3. O protocolo para a ressuspensão deve ser criteriosamente respeitado.
4. Uma vez aberto, este cartucho de reagente deve guardar-se no carrossel do reagente do instrumento. Deve ter-se cuidado para evitar entornar os reagentes quando se coloca pela primeira vez o cartucho de reagente no instrumento.
5. A contaminação química dos reagentes pode surgir devido a limpeza ou lavagem inadequada do instrumento. Os resíduos de químicos laboratoriais comuns, como formalina, lixívia, etanol ou detergente, podem causar interferência no ensaio. Certifique-se de que segue o procedimento de limpeza recomendado do instrumento, conforme definido no manual do operador do BIO-FLASH.

Condições de conservação

1. Conserve os cartuchos de reagente e o tampão de ressuspensão por abrir a 2-8 °C. Não congele. Os reagentes permanecem estáveis até à data de validade indicada, quando conservados e manipulados conforme descrito no protocolo.
2. Devem guardar-se no instrumento os cartuchos de reagentes abertos. O software BIO-FLASH monitoriza as datas de validade (durante a utilização) bem como a data de validade do lote do reagente (período de armazenamento) do cartucho do reagente. O sistema não permite a utilização de um cartucho que tenha expirado.

Colheita, preparação e manuseamento de amostras

Este procedimento deve ser efetuado numa amostra de soro. As amostras de soro com contaminação microbiana, que sofreram tratamento térmico que contêm partículas visíveis não devem ser utilizadas. Não deve utilizar-se soro muito hemolizado ou itérico.

Após a colheita, o soro deve ser separado do coágulo. O documento H18-A4 da CLSI recomenda as seguintes condições de conservação para as amostras.

1. Não conservar as amostras à temperatura ambiente durante mais de 8 horas.
2. Se o teste não for concluído num prazo de 8 horas, guardar a amostra a 2-8 °C.
3. Se o teste não for concluído num prazo de 48 horas ou para transporte da amostra, congelar a -20 °C ou temperatura inferior. As amostras congeladas devem ser bem agitadas depois de descongelarem e antes de serem testadas.

Procedimento

Materiais Fornecidos

1 Cartucho de reagente QUANTA Flash h-tTG IgA

1 Tampão de ressuspensão

1 Pipeta de transferência

Material adicional necessário mas não fornecido

Instrumento BIO-FLASH com computador

Lavagem do Sistema BIO-FLASH (Número de Peça: 3000-8205)

Ativadores BIO-FLASH (Número de Peça: 3000-8204)

Tinas BIO-FLASH (Número de Peça: 3000-8206)

Calibradores QUANTA Flash h-tTG IgA (Número de Peça: 701101)

Controlos QUANTA Flash h-tTG IgA (Número de Peça: 701102)

Utilizar o Analisador Quimioluminescente BIO-FLASH

1. Consulte o manual do operador fornecido com o sistema BIO-FLASH relativamente a instruções de funcionamento pormenorizadas do analisador quimioluminescente BIO-FLASH e do software BIO-FLASH. Para informações adicionais e resolução de problemas com este ensaio, contacte a assistência técnica da INOVA Diagnostics, Inc. no endereço ou através do número de telefone indicados no final deste Folheto de Instruções.

2. Para esvaziar o recipiente de resíduos sólidos, abra a gaveta dos resíduos. Remova o recipiente de resíduos sólidos e elimine adequadamente as tinas usadas. Substitua o recipiente de resíduos sólidos, feche a gaveta dos resíduos e clique em **Yes** na janela **Empty Waste Drawer**.

3. Para substituir os ativadores, clique no botão **Bulks Inventory F9** (superior direito).

   a. No ecrã **Inventory – Bulks** , clique no botão **Triggers** do lado esquerdo. Aparecerá uma janela nova intitulada **Add Triggers – Remove old bottles.**

   b. Abra e retire a gaveta dos resíduos do instrumento BIO-FLASH. Elimine quaisquer tinas da gaveta de resíduos secos. Clique em **Yes** na janela **Empty Waste Drawer**. Retire as garrafas ativadoras dos respetivos suportes e clique no botão **Next**. Desaperte as garrafas antigas de ativadores das tampas e substitua por ativadores novos. Certifique-se de que as coloca uma de cada vez, com as tampas com o código de cores correspondente (branca com branca e vermelha com vermelha).

   c. Siga as instruções na janela nova **Add Triggers – Add Trigger 2 bottle**. Quando o código de barras tiver sido aceite, coloque o Ativador 2 no suporte com o código de cores branco. Clique em **Next**.

   d. Siga as instruções da janela **Add Triggers – Add Trigger 1 bottle.** Quando o código de barras tiver sido aceite, coloque o Ativador 1 no suporte com o código de cores vermelho. Clique em **Finish.** Volte a colocar a gaveta dos resíduos e feche-a.

4. Para substituir o recipiente da lavagem do sistema, clique no botão **Bulks Inventory F9** (canto superior direito). No ecrã **Inventory – Bulks**, clique no botão **Sys. Rinse**. Na nova janela **Add System Rinse – Remove bottles**, clique em **Next.** Siga as instruções na janela nova **Add System Rinse – Add bottle.** Quando o código de barras tiver sido aceite, se necessário, clique em **Finish**.

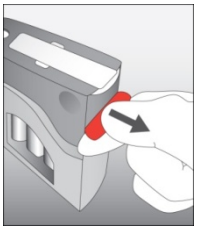
5. Para esvaziar o recipiente de resíduos de fluido, a partir do ecrã **Inventory – Bulks**, clique no botão **Fluid Waste**. Retire e elimine os resíduos de fluido. Clique em **Next**. Quando tiver substituído a garrafa vazia, clique em **Finish**.

Método

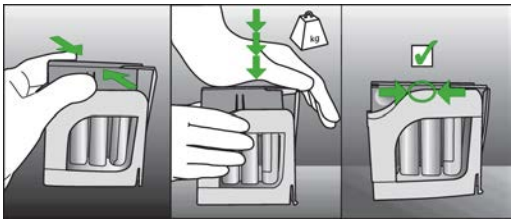
Preparação do cartucho de reagente

Da primeira vez que utilizar o cartucho de reagente, tem de seguir os passos seguintes para instalar corretamente o cartucho no instrumento BIO-FLASH. Nota: não utilize o cartucho de reagente se observar quaisquer sinais de danos.

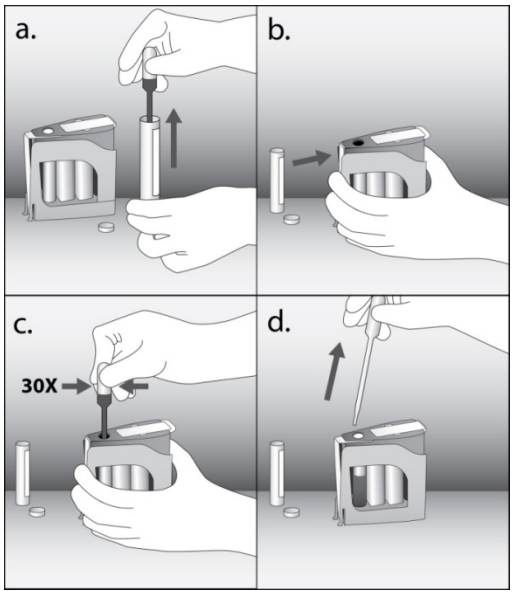
1. Coloque o cartucho de reagente numa superfície sólida. Com uma mão, segure o cartucho de reagente no lugar. Com a outra mão, segure firmemente a patilha vermelha na parte de trás do cartucho de reagente e puxe-a totalmente para fora.



2. Enquanto pressiona as duas patilhas nos lados da tampa perfurada (parte cinzenta), exerça pressão na parte superior do cartucho de reagente até encaixar numa posição bloqueada. As patilhas deverão deixar de estar visíveis. NÃO VIRE O CARTUCHO ABERTO.



3. Ressuspensão de micropartículas h-tTG:
   a. Destape o frasco do tampão de ressuspensão e recolha fluido para a pipeta de transferência fornecida. Será utilizado todo o conteúdo do frasco.
   b. Faça deslizar a porta na tampa do cartucho de reagente para a posição de aberta, pressionando suavemente o lado estreito do cartucho de reagente e mantenha-a nesta posição. Transfira cuidadosamente todo o conteúdo do frasco para o tubo do reagente de micropartículas, através de um único orifício na parte superior do cartucho de reagente.
   c. Misture os conteúdos do tubo do reagente de micropartículas aspirando e doseando o líquido, pelo menos 30 vezes. Se estiverem visíveis pedaços de esferas, continue a misturar a solução mais 30 vezes. Se as micropartículas não ficarem em ressuspensão, NÃO UTILIZE O CARTUCHO.
   d. Certifique-se de que pipeta todo o líquido antes de retirar a pipeta do tubo e eliminá-la.



4. Retire o autocolante da parte superior do cartucho de reagente para pôr à vista os outros três orifícios.
5. Coloque o cartucho de reagente em qualquer ranhura aberta no carrossel do reagente do instrumento BIO-FLASH.

Calibração do ensaio

1. Cada lote novo de cartucho de reagente tem de ser calibrado antes da primeira utilização. O software não permitirá utilizar um lote novo até que seja calibrado.
2. Consulte a secção intitulada **QUANTA Flash® h-tTG IgA Calibrators 701101** deste Folheto de Instruções relativamente a instruções pormenorizadas sobre como calibrar o cartucho de reagente.
3. Quando a calibração tiver sido validada, o lote do cartucho de reagente onde se realizou a calibração está pronto a ser utilizado.

Programação e realização de testes

1. Pressione o botão **Worklist** na parte superior do ecrã e selecione o separador **Racks** no fundo.
2. Selecione o *rack* de amostras a utilizar realçando o *rack* no ecrã ou digitalizando o código de barras com o leitor de código de barras portátil. Digitalize ou escreva o nome da amostra, selecione o tipo de amostra, o tipo de recipiente (tubo/taça) e selecione h_tTG_IgA a partir do painel do ensaio. Repita estes passos para todas as amostras.
3. Carregue as amostras nas posições selecionadas no *rack* de amostras e carregue o *rack* no carrossel de amostras do instrumento.
4. Se todos os materiais necessários estiverem colocados no instrumento, o ícone "start" estará disponível, a verde, na parte superior do ecrã. Pressione o ícone **Start F4** para iniciar o ensaio.

Controlo de qualidade

Os Controlos h-tTG IgA QUANTA Flash (vendidos em separado – INOVA Número de Item 701102) contêm os Controlos h-tTG IgA Positivos e Negativos. Consulte a secção intitulada **QUANTA Flash® h-tTG IgA Controls 701102** do Folheto de Instruções relativamente a instruções pormenorizadas sobre como introduzir todas as informações necessárias de cada controlo no software, bem como sobre o funcionamento dos controlos. Recomenda-se que se testem os controlos pelo menos uma vez nos dias em que se utiliza o ensaio; no entanto, os utilizadores também deverão considerar os requisitos regulamentares locais/nacionais.

Cálculo dos resultados

Para cada lote novo de QUANTA Flash h-tTG IgA cria-se na INOVA uma Curva Modelo de cinco pontos. Os parâmetros da curva estão codificados no código de barras de cada cartucho de reagente. Durante a calibração, cria-se uma curva de trabalho específica com base na Curva Modelo e utiliza-se para converter os valores de URL para UQ. A reatividade do anticorpo em IgA para h-tTG pode então classificar-se de acordo com a tabela abaixo.

Reatividade	**UQ**
Negativa	<20
Positivo Fraco	20-30
Positiva	>30

A reatividade em UQ está diretamente relacionada com o título do autoanticorpo na amostra do doente. Os aumentos e as diminuições nas concentrações do autoanticorpo no doente refletir-se-ão numa subida ou descida correspondente em UQ, proporcionalmente à quantidade de anticorpo.

O intervalo de medição analítica (IMA) do ensaio (determinado pelos pontos superiores e inferiores da Curva Modelo) situa-se entre 1,9 UQ e 4965,5 UQ, o que corresponde ao intervalo linear do ensaio. Se o resultado de um doente for inferior a 1,9 UQ, então o sistema BIO-FLASH indicá-lo-á como "<1,9 UQ". Visto ser inferior a 20 UQ, considera-se um resultado negativo. Se o resultado de um doente for superior a 4965,5 UQ, então o sistema BIO-FLASH indicá-lo-á como ">4965,5 UQ". Este é considerado um resultado positivo. O software BIO-FLASH disponibiliza uma opção de Novo teste automático. Se estiver selecionada esta opção, o instrumento retestará automaticamente

qualquer amostra que tenha um resultado >4965,5 UQ diluindo-a mais por um fator de 10, colocando o valor medido dentro do IMA. O resultado final será calculado pelo software tendo em conta o fator de diluição adicional. Uma vez que o valor mais elevado que pode ser medido é 4965,5 UQ, o valor mais elevado que pode ser apresentado é 49.655 UQ.

Interpretação dos resultados

Cada laboratório é aconselhado a verificar o intervalo de referência fornecido pelo fabricante e pode estabelecer o seu próprio intervalo normal baseando-se nos seus próprios controlos e na população de doentes, de acordo com os procedimentos estabelecidos pelo mesmo.

Sugere-se que os resultados apresentados pelo laboratório incluam a declaração: “Obtiveram-se os resultados seguintes com o imunoensaio quimioluminescente INOVA QUANTA Flash h-tTG IgA. Os valores obtidos com métodos de ensaio de diferentes fabricantes não podem ser comparados.”

Limitações do procedimento

1. Nem todos os doentes com doença celíaca ou dermatite herpetiforme são positivos para autoanticorpos IgA h-tTG. Para além disso, muitas vezes, um resultado h-tTG IgA negativo num doente não tratado pode explicar-se por deficiência IgA seletiva, uma conclusão relativamente frequente na doença celíaca. A INOVA oferece o kit QUANTA Flash h-tTG IgG para estes doentes.
2. Os resultados deste ensaio devem ser utilizados em conjunto com as conclusões clínicas e outros testes serológicos.
3. A ressuspensão inadequada das esferas revestidas de h-tTG pode apresentar valores inferiores aos de uma ressuspensão correta.
4. As características de desempenho deste ensaio não foram determinadas para outras matrizes além do soro.

Valores esperados

Determinou-se o corte do ensaio testando 446 amostras caracterizadas clinicamente – sangramentos simples de doentes que foram diagnosticados claramente com ou sem doença celíaca (e não estavam a fazer uma dieta sem glúten). Utilizaram-se estas amostras, 117 clinicamente positivas e 329 clinicamente negativas, para ajustar o corte para 20 UQ para otimizar a sensibilidade e a especificidade a 92,3% e 98,2%, respetivamente, neste conjunto de formação.

Comparação do método com dispositivo implicado

As amostras para a análise de comparação do método incluíram as amostras dos estudos de validação clínica (doentes com DC, sem DC e com dermatite herpetiforme) que estavam dentro do intervalo passível de relatório do ensaio. Testaram-se estas amostras no QUANTA Flash h-tTG IgA e no dispositivo implicado ELISA.

Comparação do método (N = 140)		h-tTG IgA ELISA			Concordância de Percentagem (Intervalo de segurança de 95%)
		Positivo	Negativo	Total	
QUANTA Flash h-tTG IgA IEQ	Positivo	69	2*	71	Concordância Pos. = 100% (94,7-100%)
	Negativo	0	69	69	Concordância Neg. = 97,2% (90,3-99,2%)
	Total	69	71	140	Concordância Total = 99,1%
*Uma amostra era de um dador de sangue que foi altamente negativo no h-tTG IgA ELISA, e a outra foi de um doente com dermatite herpetiforme.					

Sensibilidade e especificidade clínicas

O estudo de validação clínica incluiu 200 dadores de sangue normais, 71 controlos de doença não celíaca, 77 amostras de uma oficina tTG (27 controlos DC e 50 não DC) e 29 amostras de DC adicionais da biblioteca de soros INOVA. Testaram-se estas amostras com o kit QUANTA Flash h-tTG IgA. Abaixo encontram-se os resultados destes testes:

Clínico (N = 371)		Diagnóstico			Sensibilidade e Especificidade (Intervalo de segurança de 95%)
		DC	Não DC	Total	
QUANTA Flash h-tTG IgA IEQ	Positivo	47	6*	53	Sensibilidade = 94,0% (83,5-98,7%)
	Negativo	3**	315	318	Especificidade = 98,1% (96,0-99,3%)
	Total	50	321	371	
*Estes são provenientes de 4 dadores de sangue, 3 dos quais positivos pelo ELISA, e de 2 pessoas que foram positivas para anticorpos para H. pylori e tiroglobulina, respetivamente. **As três amostras foram também negativas pelo h-tTG IgA ELISA.					

Na tabela abaixo mostram-se os resultados dos 25 doentes com dermatite herpetiforme.

Dermatite Herpetiforme (N = 25)		Diagnóstico			Análise (Intervalo de segurança de 95%)
		DH	Não DH	Total	
QUANTA Flash™ h-tTG IgA IEQ	Positivo	20	0	20	Sensibilidade 80,0% (59,3-93,2%)
	Negativo	5*	0	5	
	Total	25	0	25	
*Estas 5 amostras foram também negativas pelo h-tTG IgA ELISA.					

Precisão e reprodutibilidade

Avaliou-se a precisão do ensaio QUANTA Flash h-tTG IgA testando 7 doentes de acordo com o CLSI EP5-A2 e, abaixo, encontram-se os dados resumidos:

			Durante os Testes		Entre Testes		Entre Dias		Total	
Amostra	N	Média (UQ)	DP	% CV	DP	% CV	DP	% CV	DP	% CV
Dt 1	100	8,7	0,3	**3,5%**	0,2	**2,5%**	0,0	**0,0%**	0,3	**4,0%**
Dt 2	100	22,9	0,6	**2,6%**	0,7	**3,0%**	0,3	**1,3%**	1,0	**4,2%**
Dt 3	100	25,1	0,5	**2,2%**	0,8	**3,2%**	0,5	**1,8%**	1,1	**4,2%**
Dt 4	100	40,5	1,2	**2,9%**	1,5	**3,6%**	0,0	**0,0%**	1,8	**4,5%**
Dt 5	100	69,6	1,5	**2,2%**	2,5	**3,6%**	1,0	**1,4%**	3,1	**4,4%**
Dt 6	100	342,1	10,6	**3,1%**	9,9	**2,9%**	4,6	**1,3%**	15,2	**4,4%**
Dt 8	84	3476,1	224,3	**6,5%**	277,4	**8,0%**	171,6	**4,9%**	395,8	**11,4%**

Intervalo de medição analítica: limites e linearidade

De acordo com a CLSI EP17-A, o limite de deteção inferior deste ensaio é 465 URL, que está muito abaixo do fundo do intervalo de medição analítico (1,9 UQ). Todo o intervalo de medição analítico, desde 1,9 UQ até 4965,5 UQ, é linear. Realizou-se um estudo de linearidade de acordo com a CLSI EP6-A e abaixo encontram-se os dados resumidos:

Amostra	Intervalo do Teste (UQ)	Inclinação (95% IS)	Interceção Y (95% IS)	R^2
1	1,9-45,4	1,0 (0,95-1,05)	0,93 (-0,26-2,2)	1,000
2	2,8-118,3	1,03 (0,99-1,06)	0,68 (-1,38-2,7)	1,000
3	3,0-141,3	0,99 (0,95-1,02)	1,05 (-1,46-3,56)	1,000
4	17,6-724,7	1,02 (0,98-1,06)	7,81 (-7,25-22,87)	1,000
5	2,2-2699,0	1,05 (1,0-1,09)	31,18 (-18,39-80,76)	1,000
6	10,0-5428,0	0,92 (0,86-0,98)	-100,9 (-267,2-65,5)	0,990

QUANTA Flash® h-tTG IgA **701101** Calibrators

Para Utilização em Diagnóstico *In Vitro*

Utilização prevista

Os Calibradores QUANTA Flash h-tTG IgA destinam-se a utilização com o imunoensaio quimioluminescente QUANTA Flash h-tTG IgA (IEQ) no instrumento BIO-FLASH. Cada calibrador estabelece um ponto de referência para a curva de trabalho utilizada para determinar valores de Unidades Quimioluminescentes (UQ) na medição de anticorpos IgA anti-h-tTG em soro.

Resumo e princípios do procedimento

O QUANTA Flash h-tTG IgA IEQ utiliza uma Curva Modelo específica do lote predefinida que está armazenada no código de barras do cartucho de reagente. Os Calibradores QUANTA Flash h-tTG IgA estão concebidos para produzir uma Curva de Trabalho específica do instrumento, a partir de parâmetros da Curva Modelo, com um ponto de decisão baseado nas características de desempenho e na avaliação clínica do QUANTA Flash h-tTG IgA IEQ. Antes da atribuição do valor, testam-se os calibradores em vários instrumentos com diversos lotes de reagentes.

Reagentes

1. Calibrador 1 QUANTA Flash h-tTG IgA: dois (2) tubos marcados com código de barras, contendo 0,3 ml de reagente pré-diluído pronto a usar. Calibradores contendo anticorpos IgA humanos para h-tTG em estabilizadores e conservantes.
2. Calibrador 2 QUANTA Flash h-tTG IgA: dois (2) tubos marcados com código de barras, contendo 0,3 ml de reagente pré-diluído pronto a usar. Calibradores contendo anticorpos IgA humanos para h-tTG em estabilizadores e conservantes.

Advertências

1. Todo o material de origem humana utilizado na preparação dos calibradores deste produto foi testado e deu resultados negativos com métodos aprovados pela FDA para anticorpos de VIH, HBsAg e VHC. Contudo, nenhum teste pode garantir com certeza absoluta a ausência de VIH, VHB, VHC ou outros agentes infecciosos. Portanto, devem manipular-se os Calibradores QUANTA Flash RNP como se fossem qualquer material potencialmente infeccioso.[10]
2. Usar equipamento de proteção individual apropriado para trabalhar com os reagentes fornecidos.
3. Os salpicos de reagentes devem ser limpos imediatamente. Respeitar todas as regulamentações ambientais, nacionais e locais relativas à eliminação de resíduos.

Precauções

1. Este produto destina-se à utilização para diagnóstico *In Vitro*.
2. Os calibradores QUANTA Flash h-tTG IgA destinam-se a utilização com o ensaio QUANTA Flash h-tTG IgA.
3. Não transfira os reagentes calibradores para tubos secundários. O instrumento utiliza os códigos de barras nos tubos para combinar os calibradores com o tipo de ensaio adequado.
4. Após aberto, um tubo calibrador mantém-se bom durante um período de 8 horas quando deixado destapado, inserido no instrumento, após o qual o reagente tem de ser eliminado.

5. A contaminação química dos reagentes pode surgir por limpeza ou lavagem inadequada do instrumento. Os resíduos de químicos laboratoriais comuns, como formalina, lixívia, etanol ou detergente, podem causar interferência no ensaio. Certifique-se de que segue o procedimento de limpeza recomendado do instrumento, conforme definido no manual do operador do BIO-FLASH.

Condições de conservação

1. Conserve os calibradores por abrir a 2-8 °C. Não congele. Os reagentes permanecem estáveis até à data de validade indicada, quando conservados e manipulados conforme descrito no protocolo.
2. Devem eliminar-se os calibradores abertos após 8 horas deixados destapados, inseridos no instrumento.

Procedimento

1. Cada lote novo de cartucho de reagente tem de ser calibrado antes da primeira utilização. O software não permitirá utilizar um lote novo até que seja calibrado.
2. Antes da utilização, tem de misturar-se suavemente cada calibrador para garantir a homogeneidade. Evite a formação de espuma, uma vez que as bolhas podem interferir com a deteção do nível do líquido dos instrumentos. Destape cada tubo calibrador e coloque ambos num *rack* de amostras, com os códigos de barras virados para a frente através dos espaços no *rack*. Coloque o *rack* de amostras no carrossel de amostras do instrumento BIO-FLASH e feche a porta. O instrumento lerá os códigos de barras nos tubos calibradores e identificará o cartucho de reagente necessário. Consulte o manual do operador fornecido com o sistema BIO-FLASH relativamente a instruções de funcionamento pormenorizadas do analisador quimioluminescente BIO-FLASH e do software BIO-FLASH.
3. O instrumento testará então cada calibrador em triplicado. Após os Calibradores terem sido testados, o software exigirá a validação da calibração. A partir do ecrã **Instrument Summary**, clique no botão de seta **Choose more options – Ctrl-M (▼)**. Selecione **Calibration Ctrl-F3**. Na janela **Calibration**, realce o ensaio pretendido e clique em **Details**.
4. Na nova janela **Calibration Details**, selecione a calibração que acabou de ser executada. A Curva Modelo aparece como uma linha tracejada, ao passo que a Curva de Trabalho aparece como uma linha contínua. Se os resultados da calibração forem válidos, aparecerá um botão de validação no canto inferior esquerdo do ecrã. Clique no botão **Validate Calibration**.
5. Quando a calibração tiver sido validada, o lote do cartucho de reagente onde se realizou a calibração está pronto a ser utilizado. Recomenda-se testar os Controlos QUANTA Flash h-tTG IgA (vendidos separadamente – número de peça 701102) após a calibração de um lote de cartucho de reagente.

Rastreabilidade

Atualmente não existe uma norma internacional reconhecida para a medição de anticorpos da transglutaminase tecidular anti-humana da IgA.

Limitações

Estes calibradores estão concebidos para 4 calibrações. O tempo total em que os tubos calibradores podem estar destapados dentro do instrumento é de 8 horas. Se se deixarem os calibradores destapados, dentro do instrumento, durante mais tempo, deverão ser eliminados. Utilizar os mesmos tubos calibradores mais de 8 horas pode originar uma calibração incorreta do ensaio que, por sua vez, pode fornecer resultados errados.

QUANTA Flash® h-tTG IgA **701102** Controls

Para Utilização em Diagnóstico *In Vitro*

Utilização prevista

Utilizam-se os Controlos QUANTA Flash h-tTG IgA para controlo da qualidade do kit de imunoensaio quimioluminescente (IEQ) QUANTA Flash h-tTG IgA testado num instrumento BIO-FLASH.

Resumo e princípios do procedimento

Os Controlos QUANTA Flash h-tTG IgA são constituídos por um Controlo Negativo e um Controlo Positivo. Cada um contém uma quantidade diferente de anticorpos IgA anti-h-tTG. O Controlo Negativo e o Controlo Positivo são utilizados para monitorizar o desempenho analítico do imunoensaio quimioluminescente QUANTA Flash h-tTG IgA.

Reagentes

1. Controlo Negativo QUANTA Flash h-tTG IgA: dois (2) tubos marcados com código de barras, contendo 0,5 ml de reagente pronto a usar. Controlos contendo anticorpos IgA humanos para h-tTG em estabilizadores e conservantes.
2. Controlo Positivo QUANTA Flash h-tTG IgA: dois (2) tubos marcados com código de barras, contendo 0,5 ml de reagente pronto a usar. Controlos contendo anticorpos IgA humanos para h-tTG em estabilizadores e conservantes.

Advertências

1. Todo o material de origem humana utilizado na preparação dos controlos deste produto foi testado e deu resultados negativos com métodos aprovados pela FDA para anticorpos de VIH, HBsAg e VHC. Contudo, nenhum teste pode garantir com certeza absoluta a ausência de VIH, VHB, VHC ou outros agentes infecciosos. Portanto, devem manipular-se os Controlos QUANTA Flash h-tTG IgA como se fossem qualquer material potencialmente infeccioso.[10]
2. Usar equipamento de proteção individual apropriado para trabalhar com os reagentes fornecidos.
3. Os salpicos de reagentes devem ser limpos imediatamente. Respeitar todas as regulamentações ambientais, nacionais e locais relativas à eliminação de resíduos.

Precauções

1. Este produto destina-se a utilização para diagnóstico *In Vitro*.
2. Os Controlos QUANTA Flash h-tTG IgA destinam-se a utilização com o ensaio QUANTA Flash h-tTG IgA.
3. Não transfira os reagentes do controlo para tubos secundários. O instrumento utiliza os códigos de barras nos tubos para identificar o controlo.
4. Uma vez aberto, cada tubo de controlo está em condições de ser utilizado até 15 vezes, com um tempo médio de 10 minutos inserido no instrumento por utilização, durante um total de 2 horas e meia.
5. A contaminação química dos reagentes pode surgir devido a limpeza ou lavagem inadequada do instrumento. Os resíduos de químicos laboratoriais comuns, como formalina, lixívia, etanol ou detergente, podem causar interferência no ensaio. Certifique-se de que segue o procedimento de limpeza recomendado do instrumento, conforme definido no manual do operador do BIO-FLASH.

Condições de conservação

1. Conserve os controlos por abrir a 2-8 °C. Não congele. Os reagentes permanecem estáveis até à data de validade indicada, quando conservados e manipulados conforme descrito no protocolo.
2. Os controlos estão concebidos para 15 utilizações, com um tempo médio de 10 minutos inserido no instrumento por utilização. O tempo total que os tubos de controlo podem estar destapados, inseridos no instrumento, é de 2 horas e meia. Se se deixarem os controlos abertos, colocados no instrumento, por um período total superior a 2 horas e meia, deverão ser eliminados.
3. Para a estabilidade ideal, retire os controlos do sistema imediatamente após a amostragem e guarde-os a 2-8 °C tapados no frasco original.

Procedimento

Para criar novos materiais de CQ para o ensaio h-tTG IgA:

1. Antes de utilizar Controlos QUANTA Flash h-tTG IgA pela primeira vez no instrumento, tem de introduzir no software o nome, o lote, a data de validade, o valor (ou dose) e as informações de desvio padrão (DP) alvo.
2. A partir do ecrã **Instrument Summary**, clique no botão de seta **Choose more options – Ctrl-M (▼)**. Selecione **QC Ctrl-F2**. Clique no botão **New QC Material**.
3. Com cada kit de Controlos está incluída uma ficha de dados específica do lote. Introduza primeiro o nome, o número do lote e a data de validade desta folha de dados no software. Em seguida, clique no botão **Add Assay**. Na nova janela, certifique-se de que a caixa **Show All Assays** está assinalada. Selecione o ensaio h_tTG_IgA da lista e clique em **Add**. Por fim, introduza a dose alvo e o DP alvo. Clique em **Save**. Execute este processo para ambos os controlos.

Para criar um novo lote para materiais de CQ existentes:

1. Antes de utilizar um lote novo de Controlos QUANTA Flash h-tTG IgA pela primeira vez, tem de introduzir no software o lote, a data de validade, o valor (ou dose) e as informações de DP alvo.
2. A partir do ecrã **Instrument Summary**, clique no botão de seta **Choose more options – Ctrl-M (▼)**. Selecione **QC Ctrl-F2**. Realce o ensaio h_tTG_IgA na coluna do lado esquerdo. Em seguida, realce o material do controlo adequado à direita (“TTGAN” para o Controlo Negativo ou “TTGAP” para o Controlo Positivo). Clique no botão **New QC Lot**.
3. Com cada kit de Controlos está incluída uma ficha de dados específica do lote. Introduza as informações desta ficha de dados no software. Estas deverão incluir o número do lote, a data de validade, a dose alvo e o DP alvo. Se necessário, clique no botão **Add Assay**. Na nova janela, certifique-se de que a caixa **Show All Assays** está assinalada. Selecione o ensaio h_tTG_IgA da lista e clique em **Add**. Clique em **Save**. Execute este processo para ambos os controlos.

Recomenda-se a utilização dos controlos QUANTA Flash h-tTG IgA uma vez por cada dia que se utilize o ensaio; no entanto, os utilizadores também deverão considerar os requisitos regulamentares locais/nacionais.

Antes da utilização, tem de misturar-se suavemente cada controlo para garantir a homogeneidade. Evite a formação de espuma, uma vez que as bolhas podem interferir com a deteção do nível do líquido dos instrumentos. Destape cada tubo de controlo e coloque ambos num *rack* de amostras, com os códigos de barras virados para a frente através dos espaços no *rack*. Coloque o *rack* de amostras no carrossel de amostras do instrumento BIO-FLASH e feche a porta. O instrumento lerá os códigos de barras nos tubos de controlo e identificará o cartucho de reagente necessário. Consulte o manual do operador fornecido com o sistema BIO-FLASH relativamente a instruções de funcionamento pormenorizadas do analisador quimioluminescente BIO-FLASH e do software BIO-FLASH.

Rastreabilidade

Atualmente não existe uma norma internacional reconhecida para a medição de anticorpos da transglutaminase tecidular anti-humana da IgA.

Limitações

Estes controlos estão concebidos para 15 utilizações. A etiqueta de cada tubo de controlo tem uma fila de 15 caixas que podem marcar-se para verificar o número de utilizações. O tempo total que os tubos de controlo podem estar destapados, inseridos no instrumento, é de 2 horas e meia. Se se deixarem os controlos abertos, colocados no instrumento, durante mais tempo, deverão ser eliminados.

Referências

1. Trier JS: **Celiac Sprue**. N Engl J Med 1991, **325**: 1709-1719.
2. Strober W: **Gluten-sensitive enterophy: A nonallergic immune hypersensitivity of the gastrointestinal tract**. J Allergy Clin. Immunol. 1986, **78**: 202-211.
3. McMillan SA, Haughton DJ, Biggart JD, Edgar JD, Porter KG, McNeill TA: **Predictive value for coeliac disease of antibodies to gliadin, endomysium and jejunum in patients attending for jejunal biopsy**. BMJ 1991, **303**: 1163-1165.
4. Valdimarsson T, Franzen L, Grodzinsky E, Skogh T, Ström M: **Is small bowel biopsy necessary in adults with suspected celiac disease and IgA anti-endomysial antibodies? 100% positive predictive value for celiac disease in adults**. Digestive Diseases and Science 1996, **41**: 83-87.
5. Walker-Smith JA, Guandalini S, Schmitz J, Shmerling DH, Visakorpi JK: **Revised criteria for diagnosis of celiac disease: Report of working group of European Society of Pediatric Gastroenterology and Nutrition (ESPGAN)**. Arch Diseases of Childhood 1990, **65**: 909-911.
6. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO, Schuppan D: **Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease**. Nature Medicine 1997, **3**: 797-801.
7. Sárdy M, Odenthal U, Kárpáti S, Paulsson M, Smyth N: **Recombinant human tissue transglutaminase ELISA for the diagnosis of gluten-sensitive enteropathy**. Clin Chem 1999, **45**: 2142-2149.
8. Sblattero D, Berti I, Trevisiol C, Marzari R, Tommasini A, Bradbury A, Fasano A, Ventura A, Not T: **Human recombinant tissue transglutaminase ELISA : an innovative diagnostic assay for celiac disease**. Am J Gastroenterology 2000, **95**: 1253-1257.
9. Marietta EV, Camilleri MJ, Castro LA, Krause PK, Pittelkow MR, Murray JA: **Transglutaminase autoantibodies in dermatitis herpetiformis and Celiac Sprue**. J Invest Dermatol 2007, **128**: 332-335.
10. **Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition**. Centers for Disease Control/National Institute of Health, 2009.

Símbolos utilizados

Dispositivo médico para diagnóstico *In Vitro*

Consultar as instruções de utilização

Limite de temperatura

Não reutilizar

Riscos biológicos

Código do lote

Número de catálogo

Utilizar até

Fabricante

Representante autorizado

Contém o suficiente para < n > testes

Controlo Positivo

Controlo Negativo

Calibrador 1

Calibrador 2

Reciclar a caixa de papel

Este lado para cima

QUANTA Flash é uma marca comercial registada da INOVA Diagnostics Inc. BIO-FLASH é uma marca comercial registada da Biokit S.A. © 2013

Fabricado por:
INOVA Diagnostics, Inc.
9900 Old Grove Road
San Diego, CA 92131
Estados Unidos da América

Assistência Técnica (apenas EUA e Canadá): 877-829-4745
Assistência Técnica (Fora dos EUA): 1 858-805-7950
support@inovadx.com

Representante Autorizado na UE:
Medical Technology Promedt Consulting GmbH
Altenhofstrasse 80
D-66386 St. Ingbert, Alemanha
Tel.: +49-6894-581020
Fax.: +49-6894-581021
www.mt-procons.com

621100PRT Dezembro de 2013
Revisão 2